

Miia Eerola, Olha Synenko

Opetusvideo veren sivelyvalmisteen tekemisestä

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Bioanalyttikko

Bioanalytiikan koulutusohjelma

Opinnäytetyö

15.04.2015

Tekijä(t) Otsikko	Olha Synenko, Miia Eerola Opetusvideo veren sivelyvalmisteen tekemisestä
Sivumäärä Aika	29 sivua + 3 liitettä 15.04.2015
Tutkinto	Bioanalyttikko (AMK)
Koulutusohjelma	Bioanalytiikan koulutusohjelma
Ohjaaja(t)	Lehtori Irma Niittymäki Sairaalakemisti Christel Pussinen
<p>Veren sivelyvalmiste tehdään solujen morfologisten muutosten ja määrasuhteiden arvioimiseksi. Laadukas sivelyvalmiste on tehty mahdollisimman pian näytteenoton jälkeen oikeaa tekniikkaa ja puhtaita ja laadukkaita välineitä käyttäen. Mitä enemmän aikaa kuluu näytteenoton jälkeen sivelyvalmisteen tekemiseen, sitä enemmän soluissa on havaittavissa morfologisia muutoksia, jotka eivät vastaa potilaan veren todellista koostumusta. Huonolla tekniikalla tehty veren sivelyvalmiste voi aiheuttaa solujen epätasaista jakautumista objektilasille, hajottaa soluja tai tehdä valmisteesta analysointikelvottoman muista syistä.</p> <p>Jokaisen oppimistyyli on yksilöllinen ja saattaa vaihdella eri tilanteissa. Opetusvideo tukee auditiivista, verbaalista ja visuaalista oppimistyyliä. Taitojen oppiminen on prosessi, joka vaatii useita toistoja luodakseen mentaalisen mallin aivoihin. Tämän mallin avulla taito on palautettavissa pitkänkin ajan päästä. Opetusvideo mahdollistaa asian kertaamisen ja omaan tahtiin oppimisen.</p> <p>Opinnäytetyön tavoitteena oli luoda selkeä ja helposti ymmärrettävä opetusvideo verensivelyvalmisteen tekemisestä. Tuotteen tilaajana oli Yhtyneet Medix Laboratoriot Oy (YML) yritys ja video toteutettu yhdessä Metropolian mediatekniikan opiskelijoiden kanssa. Opinnäytetyössämme on selvitetty miten laadukas sivelyvalmiste tehdään ja mitkä tekijät vaikuttavat sivelyvalmisteen laadukkuuteen sekä tarkasteltu tekovälineitä ja oikeaa vetotekniikkaa.</p> <p>Opinnäyte on toiminnallinen ja sen tuotoksena on opetusvideo. Videolla havainnollistetaan tekoprosessi näytteen sekoittamisesta aina valmiin veren sivelyvalmisteen kuljetuskoteloon laittamiseen saakka. Toteutuksessa käytimme kuvan lisäksi selostusta, graafisia havainnollistamismenetelmiä sekä tekstiä. Opetusvideo korostaa näytteen riittävää sekoittamista, oikeaa vetokulmaa ja riittävän nopeaa kuivaamista, ulkonäöllisesti laadukasta valmistetta sekä valmisteen identifikaatiota. Videolle on kerätty myös havainnollistamaan huonompia valmisteita sekä mikroskooppikuvia huonosta ja hyvästä valmisteesta. Pyrimme korostamaan harjoittelun ja toistojen tärkeyttä taidon oppimiseksi.</p> <p>Opetusvideo julkaistu YML:n internet-sivuilla ja on sitä kautta saatavissa YML:n asiakkaille.</p>	
Avainsanat	laadukas veren sivelyvalmiste, opetusvideo, verisolujen morfologian säilyvyys

Author(s) Title	Olha Synenko, Miia Eerola Educational video about making of a blood smear preparation
Number of Pages Date	29 pages + 3 appendices 15 April 2015
Degree	Bachelor of Health Care
Degree Programme	Biomedical Laboratory Science
Instructor(s)	Irma Niittymäki, Lecturer Christel Pussinen, Clinical chemist
<p>Blood smear preparation is done in order to evaluate the morphological changes and quantities of the cells. In order to achieve high quality blood smear, it needs to be done as soon as possible after taking the sample by using the correct technique and clean, good quality equipment. The more time passes between taking the sample and blood smear preparation, the more morphological changes will occur in the cells, which will differ from the actual blood constitution of the patient. If the blood smear is prepared incorrectly, the cells may spread out unevenly on the slide, break down or make the preparation unfit for analysis for other reasons.</p> <p>Each person's way of learning is individual and can vary depending on the situation. Educational video supports auditory, verbal and visual learning types. Learning of the skills is a process that requires multiple repeats in order to create a mental model in the brain. With the help of this model, the skill can be restored even after a long time. The educational video makes revising and learning at one's own pace possible.</p> <p>The aim of this thesis was to create a clean and easy to understand educational video about making of a blood smear preparation. The video was ordered by United Medix Laboratories Ltd (UML) and executed together with Metropolia's students of media technology. In our thesis we looked into how a high quality blood smear preparation is made and what factors affect a blood smears quality. We also examined the equipment that is needed for it as well as the correct pulling technique.</p> <p>The thesis proved to be functional and the result of it is an educational video. The video demonstrates the entire preparation process from mixing the sample to packaging the finished blood smear preparation into a transportation box. In addition to images, we used commentary, graphs and text in the realization of the video. The educational video stresses the following things: the sample needs to be sufficiently mixed, the pulling angle needs to be correct, drying needs to be done fast, quality appearance of the preparation and identification of preparation. The video also demonstrates what bad preparations looks like and shows microscope images of both bad and good preparations. We aimed to highlight the importance of practice and repetition in learning the skill.</p> <p>The educational video has been published on the UML website and is thus available to UML's customers.</p>	
Keywords	high quality blood smear preparation, educational video, blood cells morphology storage

Sisällys

1	Johdanto	1
2	Työn tarkoitus ja tavoitteet	2
3	Verenkuvatutkimus	3
3.1	Verenkuvanäytteen ottaminen	3
3.2	Verenkuvatutkimusten antikoagulantti	4
3.3	Verenkuvanäytteen säilyvyys	5
3.4	Verenkuvanäytteen säilytyksen aiheuttamia morfologisia muutoksia	6
4	Veren sivelyvalmiste	7
4.1	Tarvittavat tarvikkeet	8
4.1.1	Objektilasit	8
4.1.2	Vetolasit	9
4.1.3	Kapillaarit	9
4.2	Sivelyvalmisteen tekeminen	10
4.3	Veren sivelyvalmisteen kiinnittäminen ja värjäys	11
5	Veren sivelyvalmisteen laatu	12
5.1	Sivelyvalmisteen tekemiseen liittyvät laadulliset tekijät	12
5.2	Sivelyvalmisteen säilymiseen vaikuttavia tekijöitä	18
6	Opetusvideo veren sivelyvalmisteen tekemisestä	19
6.1	Oppimistyylit ja taitojen oppiminen	19
6.2	Käsikirjoituksen tekeminen	20
6.3	Projektin aikataulu ja eteneminen	22
7	Pohdinta	23
	Lähteet	26
	Liitteet	
	Liite 1. Synopsis	
	Liite 2. Käsikirjoitus	
	Liite 3. Selostuskäsikirjoitus	

1 Johdanto

Vuonna 2014 Vives-Corrans ja muut ovat tutkineet EDTA-antikoaguloidun veren säilyttämisestä aiheutuvia muutoksia ja todenneet verisolujen morfologian muuttuvan säilytyksen aikana, jolloin valkosolujen erittelylaskenta hankaloituu sekä punasolumorfologian arviointi on hankalampaa. Veren sivelyvalmisteen tekemistä suositellaankin mahdollisimman pian näytteenotosta. Veren sivelyvalmistetta voidaan käyttää veritautien diagnostiikassa ja erilaisten anemioiden ja veren parasiittien tunnistamisessa.

Mahlamäki painottaa, että veren sivelyvalmiste tulee suorittaa teknisesti oikein, jotta valmiste on analyysikelpoinen ja solut ovat jakautuneet tasaisesti lasille tekemässään artikkelissa Veren kuvan tutkimukset (2004). Lisäksi valmisteen kiinnittämisvaiheessa ja värjäysvaiheessa tapahtuvat tekijät vaikuttavat valmisteen laatuun. Salakari toteaa teoksessaan Taitojen opetus (2007), että motoristen taitojen oppiminen vaatii harjoittelua. Se on vaiheittain etenevä prosessi, joka johtaa mentaalisen mallin muodostumiseen. Tällöin taito automatisoituu ja on palautettavissa pitkänkin ajan kuluttua.

Yhtyneet Medix Laboratoriot (myöhemmin YML) tuottaa ostopalveluna ympäri Suomen toimiville terveydenhuollon toimijoille mm. lääkäriasemille, julkisen sektorin sairaalalaboratorioille ja perusterveydenhuollolle laboratorioanalyytikan palveluita. Osana tutkimuksia ovat hematologiset tutkimukset TVK eli täydellinen verenkuvakuva, PVK eli perusverenkuvakuva, PVKT eli perusverenkuvakuva ja trombosyytit sekä PVKT + Neutrofiilit eli perusverenkuvakuva, trombosyytit ja neutrofiilien erittelylaskenta. Näiden säilyvyys on rajattu yhteen vuorokauteen YML:llä, mikäli näytteet säilytetään 4-8 °C lämpötilassa. TVK näytteitä YML:lle tulee vuosittain n 13 000 kpl sekä PVK ja PVKT + neutrofiilit pyynnöllisiä näytteitä vajaa 100 000 kpl. Verensivelyvalmiste tehdään TVK- näytteistä, mikäli ne eivät saavu näytteenottopäivänä YML:lle analysoitavaksi. Eli sivelyvalmiste suositellaan tehtäväksi kaikista kyseisistä näytteistä, joissa EDTA-kokoverinäyte ei ole analysointikelpoinen solulaskentaa varten saapuessaan YML:lle esimerkiksi useamman säilytyspäivän takia. YML ohjeistaa asiakkaitaan tekemään veren sivelyvalmisteen heti näytteenoton jälkeen tai viimeistään näytteenottopäivän aikana.

YML on kokenut saamiensa veren sivelyvalmisteiden laadun olevan hyvin vaihteleva ja toisinaan osa sivelyvalmisteista on analyysikelvottomia väärän tekniikan vuoksi. Tämän takia he haluavat tarjota asiakkailleen opetusvideon, jossa kerrataan sivelyvalmisteen

tekeminen ja siihen liittyviä tekijöitä. Opetusvideon kohderyhmäksi rajataan jo aikaisemmin veren sivelyvalmisteita tehneet työntekijät, jolloin voidaan olettaa heidän tietävän, millaiseen analytiikkaan valmistetta käytetään. Tällöin videolla voidaan käydä asiat kertausluontoisesti läpi keskittyen tekniikkaan. Videon tarkoituksena on olla lyhyt, jotta sen pystyy katsomaan esimerkiksi työn lomassa ja tarvittaessa palaamaan osioihin, jotka as-karruttavat.

Opinnäytetyössä on esiteltynä tarkemmin verensivelyvalmisteen laatuun vaikuttavia tekijöitä. Tarkastelemme niin preanalyttisia kuin postanalyttisia tekijöitä sekä välineitä että tekniikkaa. Video toteutetaan yhdessä mediatekniikan opiskelijoiden kanssa. Osaksemme videon toteutuksessa jää käsikirjoituksen sekä selostuksen käsikirjoituksen tekeminen ja kuvaus-, leikkaus- ja editointivaiheessa asiantuntijoina toimiminen, jotta videossa esitettävät asiat ovat oikein ilmaistu ja sivelyvalmisteen teossa olevat tärkeät osat saadaan korostettua. Videossa käytettävät materiaalit ja itse kuvattavan suorituksen tekijä saadaan YML:ltä.

2 Työn tarkoitus ja tavoitteet

Työmme tavoitteena on luoda selkeä ja helposti ymmärrettävä opetusvideo veren sivelyvalmisteen tekemisestä. Selkeydellä haluamme korostaa yksityiskohtaista ja oikeaoppista tekniikkaa. Tarkoituksena on tuoda esille myös epäkohtia valmisteen tekoprosessissa ja niiden vaikutusta veren sivelyvalmisteeseen.

Videon pohjalta voidaan opastaa sellaisia henkilöitä, joilla veren sivelyvalmisteen tekemisestä on kulunut jo pitkä aika ja sellaisia, jotka työssään tekevät niitä niin harvoin, ettei tästä ole muodostunut rutiinia. Tarkoituksena on, että myös työpaikkakoulutetut näytteenottajat, joilla ei ole bioanalyttikon tai laboratoriohoitajan taustaa ymmärtäisivät videon avulla laadukkaan verensivelyvalmisteen tekemiseen vaikuttavat tekijät.

3 Verenkuvatutkimus

Verenkuvatutkimukset käsittävät puna- ja valkosolujen sekä trombosyyttien määrän laskemisen, hemoglobiinipitoisuuden, hematokriitin sekä punasoluarvoja kuten punasolujen keskitilavuuden, hemoglobiinin keskimassan ja keskimassakonsentraation. Lisäksi valkosoluista tehdään erittelylaskenta, jossa määritellään neutrofiilien, eosinofiilien, basofiilien, lymfosyyttien ja monosyyttien suhteelliset osuudet ja absoluuttinen määrä. Puna- ja valkosolu sekä trombosyyttilaskenta tehdään automaattilaitteilla ja isommissa laboratorioissa valkosolujen erittelylaskentakin voidaan suorittaa koneellisesti. Automaattiset solulaskijat tuottavat lisäksi punasolujen koonvaihtelua kuvaavan suureen, kojojakauma-arvon. Koneet eivät kuitenkaan aina selviydy valkosolulaskennasta etenkin jos solujen morfologiassa eli kehityksessä on muutoksia tai solujen nuoruusmuotoja esiintyy, vaan erittelylaskenta joudutaan tehdä mikroskooppisesti sivelyvalmisteesta. Valkosolujen erittelylaskenta tulee tehdä mahdollisimman tuoreesta veren sivelyvalmisteesta, joka on värjätty May-Grunwald-Giemsan värjäyksellä. (Savolainen 2007: 88–92.)

3.1 Verenkuvanäytteen ottaminen

Verenkuvatutkimukset tehdään tavallisimmin laskimoverinäytteestä, joka otetaan yleensä kyynärtaipeen laskimosta. Näyte voidaan ottaa myös ihopistosnäytteenä sormenpäästä ja vastasyntyneeltä lapselta kantapäästä. (Savolainen 2007: 85.) Tartuntariskien vähentämiseksi on näytteiden käsittelyssä syytä käyttää suojakäsineitä ja pitää aina saatavilla desinfektioainetta. Suojakäsineitä käytetään verta käsiteltäessä ja näin suojataan sekä potilasta että työntekijää. (Katila 2004: 371.)

Laskimoverinäyte otetaan yleisimmin tyhjiöputkeen, jossa on vakioitu alipaine niin, että putkeen tulee oikea määrä verta. Putken tulee täytyä merkkiviivaan asti. Liian täyteen tullut putki saattaa aiheuttaa sen, että näyte ei sekoitu optimaalisesti antikoagulanttiin. Vajaassa putkessa antikoagulantin ja veren suhde ei ole oikea, mikä voi aiheuttaa virheellisen tutkimustuloksen. Putkiin on merkitty vanhenemispäivä, johon asti putkien alipaine pysyy vakiona. (Savolainen 2007: 85–86.)

Putkien selvä ali- tai yli- täyttö (suositusraja +/- 20 %) vaikuttaa säilyvyyteen EDTA:n konsentraatiovirheen vuoksi. Liian suuri EDTA-pitoisuus voi aiheuttaa punasolujen kustumista ja trombosyyttien turpoamista ja pilkkoutumista, jolloin trombosyyttimäärä virheellisesti lisääntyy. (Mahlamäki 2007: 268.)

Näytteenoton jälkeen putki sekoitetaan välittömästi kääntämällä ylösalaisin rauhallisesti muutaman kerran, jotta putkessa oleva antikoagulantti sekoittuu vereen tasaisesti. Sekoitettaessa on huolehdittava, että ilmakupla kulkee putken päästä päähän jokaisella sekoituskerralla. Vatkaaminen aiheuttaa solujen hajoamista ja näytteen hemolyysoitumista, joten sitä on vältettävä. Riittämättömän sekoittamisen seurauksena verinäyte voi hyytyä tai siihen muodostuu mikrohyytymiä, jotka aiheuttavat virheellisen analyysituloksen. (Tuokko 2008: 41.) Näytteen perusteellinen ja riittävän hellävarainen sekoitus takaa homogeneisuuden ja myös soluille mahdollisimman normaalia vastaavan osmoottisen ympäristön. Sekoitukseen on syytä kiinnittää erityistä huomiota, jos näytteitä on säilytetty kylmässä tai tavallista pidempään, koska tällöin osmoottinen ympäristö on muuttunut normaalista poikkeavaksi. (Siloaho 2004: 188.)

Neulan piston tulisi osua suoneen ensi yrittämällä. Näytteen valuminen hitaasti putkeen tai näytteen suihkuaminen kovalla paineella suoraan putken pohjaan voi aiheuttaa näytteen hemolyyysin eli punasolujen hajoamisen. (Savolainen 2007: 86.)

3.2 Verenkuvatutkimusten antikoagulantti

EDTA eli etyleenidiamiinitetraetikkahappo on verenkuvatutkimukseen sopivin antikoagulantti. Hyytymisestoaineista EDTA säilyttää parhaiten verisolujen muodon ja koon ja tästä syistä EDTA-verta käytetään hematologisissa määrityksissä. (Matikainen 2010: 76.) Veren hyytyminen estyy kelatoimalla, eli sitomalla kalsium-ioneja, mikä on välttämättömän hyytymiskaskaadin osa (Olesinski 1998: 11). Kalsiumin poistaminen estää veren hyytymisprosessin (Burns – Ehzan 2012: 878). EDTA-antikoagulantilla pinnoitetaan näyteputken sisäpinta ohuelti, mikä parantaa antikoagulantin sekoittumista vereen (Jury – Nagai – Tatsumi 2012: 6).

International Council for Standardization in Haematology suosittelee K₂EDTA:ta antikoagulanttina, koska se säilyttää solunmorfologian parhaiten. ICSH:n suositus EDTA:n konsentraatioksi on 1,5 – 2,2 mg EDTA/ml verta. K₃EDTA voidaan hyväksyä vaihtoehtona, mutta Na₂EDTA ei suositella, koska siinä on korkea pH, mikä voi aiheuttaa solujen

kutistumista. (Siloaho 2000: 188.) Hepariinisoitua verinäytettä ei suositella käytettäväksi, koska se usein aiheuttaa verihiutaleiden kasaantumista ja näin häiritsee verihiutaleiden morfologista tulkintaa. Hepariininäyte myös värjäytyy eri tavoin kun EDTA - veri. (Houwen 2000: 1.) Sivelyvalmiste voidaan tehdä suoraan ihopistonäytteestä ilman anti-koagulanttia, mutta tällöin trombosyytit esiintyvät kasoissa (Mahlmäki 2004: 276).

3.3 Verenkuvanäytteen säilyvyys

Säilyvyyteen vaikuttavat käytetty antikoagulantti (Na_2EDTA :n, K_2EDTA tai K_3EDTA -suola), antikoagulantin konsentraatio näytteessä, näytteen säilytysaika, lämpötila sekä sekoitustapa ja sen tehokkuus (Siloaho 2000: 188). Näytteen analyysia edeltävä säilyvyysaika riippuu tehtävästä tutkimuksesta. Verenkuvanäytteet säilyvät parhaiten jääkaappilämpötilassa, jos välitön analyysi ei ole mahdollinen. (Savolainen 2007: 87.) Verisolujen morfologiassa tapahtuu muutoksia, kun näytettä säilytetään huoneenlämmössä. Nämä muutokset tapahtuvat nopeammin korkeammissa lämpötiloissa. (Jury ym. 2012: 7.) Solut alkavat turvota, osmoottinen resistenssi, eli veden läpäisykyvyn estäminen pienenee, leukosyyttien ja verihiutaleiden määrä pienenee vähitellen ja solulaskijoiden antamat hälytykset lisääntyvät (Savolainen 2007: 87). Verisolut vaurioituvat, jos näyte pääsee jäätymään ja jos lämpötila nousee yli 37 °C (Savolainen 2007: 88; Tuokko 2009: 11).

Eräässä tutkimuksessa (Gulati – Hyland – Kocher – Schwarting 2002: 336) tutkittiin täydellisen verenkuvan ja leukosyyttien erittelyn säilyvyyttä huoneenlämmössä. Tutkimuksessa todettiin, että valkosolujen määrä pysyi stabiilina noin 2-3 päivää, mutta valkosolujen parametrit ei. Eli neutrofiilien, lymfosyyttien ja eosinofiilien määrä oli nousussa ja monosyyttien määrä oli laskussa. Basofiilien määrässä ei tutkimuksessa paljastunut merkittävä muutosta.

Jääkaapissa säilyttäminen hidastaa, mutta ei eliminoi solujen muutoksia (Shafer 1991: 1795). Kun verinäyte säilytetään 4 °C lämpötilassa, verenkuvamuutokset eivät yleensä ole merkittäviä jopa 24 tuntiin. Säilyttäminen yli 24 tuntia 4 °C lämpötilassa vaikuttaa valkosolujen erittelylaskentaan analysaattorilla mutta muutosten laajuus riippuu automaatiolaitteen valmistajasta ja sen antamasta suosituksesta. (Jury 2012: 7.)

Cornet, Behier ja Troussard (2012) ovat julkaisseet tutkimuksen, jossa tutkittiin ajan ja lämpötilan vaikutusta täydellisen verenkuvatutkimuksen parametreihin ja valkosolujen erittelylaskentaan. Verinäytteet valittiin satunnaisesti sairaalapotilaista ja niitä säilytettiin

huoneenlämmössä sekä 4 °C lämpötilassa. Verenkuvaparametrit sekä valkosolujen eritelylaskenta analysointiin hematologian analysaattorilla ja tuloksia verrattiin kahden ryhmän välillä.

Tutkimuksessa selvisi, että huoneenlämpötilassa neutrofiilien määrä nousee ja monosyyttien määrä vähenee. Säilyttämällä näytteitä 4 °C lämpötilassa parametrien toistettavuus paranee. Tutkimuksen tulokset johtavat suositukseen, että näytteet olisi analysoitava 6 tunnin aikana varsinkin jos näytteet kuljetaan huoneenlämmössä. Lisäksi suositellaan säilyttämään näytteet 4 °C lämpötilassa. (Cornet ym. 2012.)

3.4 Verenkuvanäytteen säilytyksen aiheuttamia morfologisia muutoksia

Säilytyksen aiheuttamat verisolujen morfologiset muutokset esiintyvät muutaman tunnin jälkeen näytteenotosta. Osassa neutrofiileissa näkyy muutosta; niiden tumien liuskat voivat jakautua ja sytoplasma näyttää repaleiselta sekä pienet vakuolit, eli ontelot, voivat tulla näkyviin sytoplasmaan. (Jury ym. 2012: 8.) Neutrofiilien kuollessa tumarakenne hajoaa ja kromatiinimateriaali kerääntyy sytoplasmassa pyknoottisiksi eli kutistuneiksi palloiksi (Siitonen–Jansson 2007: 101). Monella monosyyteissä kehittyy merkittäviä muutoksia; pienet vakuolit näkyvät sytoplasmassa pian näytteenoton jälkeen ja tumassa näkyy epäsäännöllinen liuskoittuminen (Jury 2012: 8). Normaalit lymfosyytit kestävät säilytystä hyvin. Reaktiiviset lymfosyytit vakuolisoituvat nopeasti, jolloin tuma muuttuu apilanheden muotoiseksi. Kaikki blastityypit voivat vakuolisoitua. (Siitonen 2007: 101.) Noin kuuden tunnin jälkeen merkittävä osa punasoluista muuttuu pallomaisiksi sferosyyteiksi ja ekinosyyteiksi eli burr-soluiksi (Siitonen–Jansson 2007: 101).

Kaikkia edellä mainittuja muutoksia ei voi sulkea pois säilytettäessä verinäytettä 4 °C lämpötilassa. Muutosten ilmeneminen korostaa, että veren sivelyvalmisteet on tärkeää tehdä niin pian kuin mahdollista näytteenoton jälkeen. (Jury ym. 2012: 8.)

Kansainvälisessä neljäntoista asiantuntijan hematologian laboratoriossa, on tehty tutkimus veren säilyttämisestä lämpötiloissa 4 °C ja 20 °C eri aikoina (0h, 4h, 12h, 24h). Näytteistä tehtiin värjätty sivelyvalmiste, josta analysoitiin säilytyksen vaikutusta. Yhteensä valmistettiin 490 MGG-värjättyä sivelyvalmistetta viidestä terveestä vapaaehtoisesta aikuisesta. Laskimoverinäytteet otettiin K₂EDTA-putkiin ja välittömästi sen jälkeen tehtiin veren sivelyvalmisteita (0h). Sivelyvalmisteet tehtiin ja värjättiin myös neljän,

12:sta ja 24 tunnin jälkeen säilytyksestä kaikista näytteistä sekä 4 °C että 20 °C lämpötiloissa. Jokainen asiantuntijoista suoritti leukosyyttien, trombosyyttien ja punasolujen morfologista tarkastelua sekä leukosyyttien erittelylaskentaa. Tällä tutkimuksella tarjottiin lisätukea ja kokeellista näyttöä vuonna 2002 julkaistuun ICSH Standardiin veren näytteenotosta, säilyvyydestä ja toimittamisesta hematologian laboratorioon. Tässä on suositeltu, että verenkuvanäytteet olisi tutkittava enintään neljän tunnin näytteenoton jälkeen, jos niitä on säilytetty huoneenlämmössä ja kuuden tunnin sisällä jos on säilytetty 4 °C:ssa. Tehdyllä tutkimuksella voi päätellä, että jos EDTA-verta käytetään veren sivelyvalmisteen tekoon, verisolujen morfologian laatua ei voi taata kuuden tunnin säilytyksen jälkeen, vaikka näytteet olisi säilytetty jääkaapissa. (Vives-Corrons ym. 2014: 222–226.)

Käytettäessä EDTA:ta antikoagulanttina havaitaan joissakin potilastapauksissa EDTA:sta johtuvia trombosyyttikasoja, agglutinaatiota tai satellismia eli trombosyyttien ryhmittymistä neutrofiilien pinnalle. Tämä taipumus lisääntyy säilytysajan pidentyessä aiheuttaen kasvavaa virhettä leukosyytti- ja trombosyyttilaskennassa useilla analyysaattoreilla. (Siloaho 2000: 188.) Ylimääräinen EDTA aiheuttaa sen, että punasolut krenatoituvat, eli saavat piikkimäisiä ulokkeita muutaman tunnin sisällä (Jury ym. 2012: 8).

4 Veren sivelyvalmiste

Veren sivelyvalmisteen mikroskooppinen tarkastelu on tärkeä hematologian perusmenetelmä. Se on säilyttänyt asemansa veritautien diagnostiikassa, vaikka nykyisin on käytävissä erilaisia tekniikoita solujen tunnistamiseen. (Siitonen – Jansson 2007: 100.)

Veren sivelyvalmiste tehdään tuoreesta EDTA-kokoverestä leukosyyttien erittelylaskentaa tai verisolujen morfologista arviointia varten (Mahlamäki 2004: 276). Mikroskooppisessa tutkimuksessa arvioidaan valkosolujen ja trombosyyttien määrää sekä tunnistetaan punasolujen morfologisia muutoksia. Lopuksi valkosolut luokitellaan ryhmätyyppeihin. (Terrell 1998: 335.) Leukosyyttien varhaismuotojen, kuten blastisolujen, tai patologisten solujen tunnistus onnistuu luotettavasti vain mikroskooppisilla morfologisilla menetelmillä (Savolainen 2007: 95).

Leukosyyttien erittelylaskenta on välttämätön leukosytopenian tai leukosytoosin selvityksessä, mahdollisen veritaudin diagnoosin tekemisessä tai poissulkemisessa sekä hoito-vasteen seurannassa. Tutkimus on harvoin tarpeellinen päivystystutkimuksena. Auto-maattilaitteella leukosyyttien erittelylaskentaa tekevissä laboratorioissa tavallisin mikro-skooppisen tutkimuksen syy on laitteen antamien hälytysten tarkistaminen. (Siitonen 2012: 159.)

4.1 Tarvittavat tarvikkeet

4.1.1 Objektilasit

Objektilaseille on tehty ISO (the International Organization for Standardization) standardi ISO8037. ISO standardit säädetään maailmanlaajuisissa standardisointiliitossa, jossa on perustettu teknisiä komiteoita laatimaan standardeja. Standardit on jaettu kahteen osaan. Ensimmäisessä osassa ISO8037-1:1986 määrittää objektilasin mitat ja pak-suus ja optiset ominaisuudet sekä merkinnät. Nämä tekijät käytännössä ratkaisevat pre-paraattien säilytysongelmia ja auttavat laaduntarkkailussa. Tarkoitus on varmistaa ob-jektilasien soveltuvuus kaikkiin mikroskopiointimenetelmiin ja taata tietty taittokerroin ja lasin paksuus, jotta kuva olisi mahdollisimman tarkka. Standardit koskevat näkyvän va-lon spektrin (400 nm – 760 nm) avulla tapahtuvaa mikroskopiointia. Toinen osa ISO8037-2:1997 käsittelee käytetyn materiaalin laatua, tuotteen viimeistelyä sekä pakkaamiseen liittyviä tekijöitä. Tämän osan tarkoituksena on taata loppukäyttäjälle turvallinen tuote, jolla on riittävä suorituskyky. Turvallisuuteen liittyvät tekijät kuten reunojen terävyys on noussut hyvin tärkeäksi tekijäksi nykypäivänä tarttuvien tautien leviämisen riskin takia. (ISO, 1997.) Standardoidun objektilasin mitat ovat 25 x 75 mm ja paksuus 1 mm (Knittel Glass).

Lasisia objektilaseja tehdään korkealaatuisesta hiekasta. Koska kaikki maaperän hiekka on osin saastunut muun muassa värillisillä oksideilla kuten rautaoksidilla, tulee hiekka valita mahdollisimman puhtaasta hiekkakuopasta. Rautaoksidi aiheuttaa suuremmilla la-sinpaksuuksilla vihertävän värin lasiin. Hiekan puhdistusprosessit ovat yleisiä laadun pa-rantamiseksi. (Knittel Glass.)

Objektilaseja tehdään myös käyttömuoveista kuten polystyreenistä ja akryylistä. Näiden etuna on, etteivät ne jätä teräviä kulmia hajotessaan sekä niitä on edullista valmistaa.

Niiden puhtaus ja pinta soveltuu myös näytteiden esikäsittelyyn ja edistävät näytteen kiinnittymistä. Niiden materiaali ei kestä kaikkia liuottimia vaan rajoituksia on muun muassa näissä kemikaaleissa: etanoli, metanoli, fenoli, orgaaniset hapot (esim. etikka-happo), bensiini, aromaattiset liuottimet (esim. bentseeni, tolueeni, ksyleeni ja tärpähti) ja klooratut hiilivedyt. (Ted Pella, Inc 1996–2015.)

Säilyttämällä objektilaseja oikein, niiden laatu pysyy hyvänä. Natronkalkkilaseille tapahtuu vanhenemisprosessi, jonka takia ne ovat käyttökelpoisia 2 vuotta valmistuksesta. Lasit ovat pestyjä ja tehdaspuhtaita. Suositus on säilyttää objektilaseja kuivassa ja huoneenlämpöisessä varastossa, jossa lasit ovat hyllyllä lattian sijaan. Lämpötilavaihtelut tai ilmankosteuden vaihtelut voivat aiheuttaa kosteuden tiivistymistä lasille ja lasien tarttumista toisiinsa. Kuljetuksen jälkeen lasien tulisi antaa lämmitä huoneenlämpöisiksi ennen pakkausten avausta, jotta näin ei kävisi. Laseja ei tulisi säilyttää liuottimien läheisyydessä, koska ne saattavat kääntää lasien pinnan hydrofobiseksi. (Globe Scientific Inc 2013.)

4.1.2 Vetolasit

Vetolasina voidaan käyttää toista objektilasia tai levitintä. Käytettäessä käytettyjä objektilaseja, tulee ne puhdistaa huolellisesti liasta, pölystä ja rasvasta. Lasit tulee kuivata huolellisesti ja säilyttää puhtaassa ja kuivassa astiassa pölyltä ja kosteudelta suojattuna. Liiallinen kosteus saattaa aiheuttaa lasien tarttumista toisiinsa. Objektilaseja ei tule liottaa useita päiviä pesuaineessa, koska se voi vaurioittaa lasin pintaa ja aiheuttaa naarmuuntumista. Huonokuntoisia, läpikuultamattomia, kolhiintuneita tai naarmuisia laseja ei tule enää käyttää. (Microkrom 2010.)

4.1.3 Kapillaarit

Kapillaari-ilmiöstä puhutaan, kun neste nousee adheesiovoiman avulla ohueen putkeen tai rakoon. Adheesiovoima syntyy, kun toisissa kiinni olevat aineet vetävät toisiaan puoleensa. Neste siirtyy kapillaariin, koska syntynyt adheesiovoima on suurempi kuin koheesiovoima, joka pitää aineen atomeita yhdessä. Adheesio- ja koheesiovoimat nostavat nestettä ylemmäs kapillaarissa. Rasva estää kapillaaria täyttymästä alentamalla koheesiovoimaa ja näin veden pintajännitettä. (Elo 1997.)

Verinäytteille on lasisia ja muovisia kapillaareja. Vaihtoehtoina on antikoagulantillisia sekä antikoagulantittomia kapillaareja. Antikoagulantilliset kapillaarit voivat sisältää natrium- tai ammonium-hepariinia, mikä estää näytteen hyytymisen. Jos näyte otetaan sormenpäästä, suositellaan käytettäväksi antikoagulanttia sisältäviä kapillaareja, jottei näytteeseen tulisi hyytymiä. Jos kapillaari täytetään antikoagulanttia sisältävästä näyte-putkesta, suositellaan antikoagulantittomia kapillaareja. Kapillaariin mahtuu 75 µl näytettä. (Globe Scientific Inc 2013.)

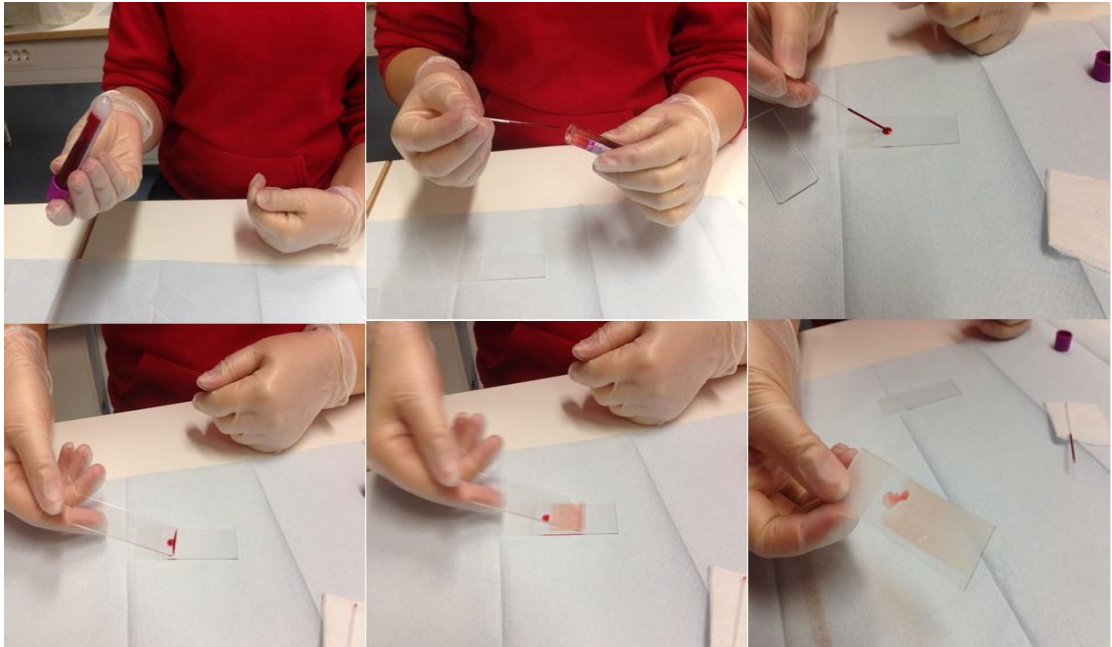
4.2 Sivelyvalmisteen tekeminen

Hematopoeettisten solujen morfologinen arviointi mikroskopoimalla vaatii hyvin valmistettua ja värjättyä veren sivelyvalmistetta. Morfologisen arvioinnin tarkkuus riippuu osittain laadukkaasta sivelyvalmisteesta. (Burns – Ehzan 2014: 884.) Sivelyvalmisteen tekeminen välittömästi näytteenoton jälkeen on suositeltavaa, mutta 1-3 tunnin viive on sallittavissa (Siitonen - Jansson 2007: 101). Kolmen tunnin kuluttua morfologiset muutokset ovat havaittavissa ja 18 tunnin kuluttua ne ovat silmiinpistäviä (Jury ym. 2012: 6).

Näytteen lämpötilan tulee olla 18 °C – 25 °C ja näyte on sekoitettava huolellisesti 8-10 kertaa ennen sivelyvalmisteen tekoa. Objektilasina voi käyttää tyhjää tai mattapäistä lasia. Objektilasin tulee olla puhdas. Vetolasina käytetään erillistä vedintä. (Turgeon 2010: 41–42.)

Kooltaan noin 5 µl oleva veripisara asetetaan joko mattapään lähelle tai noin 1,5 cm päähän lasin reunasta. Sively tehdään joko oikealla tai vasemmalla kädellä tasaisella alustalla. Vetolasi asetetaan veripisaran eteen ja lasia vedetään taaksepäin pisaraan niin että pisara leviää 3/4 vetolasille. Vetolasin kulma objektilasiin nähden tulisi olla noin 45°. Vetolasi työnnetään nopeasti ja pehmeästi objektilasin loppuun saakka. Lasi kuivataan nopeasti heiluttamalla sitä ilmassa. Tunnistetiedot kirjataan objektilasille kuivauksen jälkeen. (Turgeon 2010: 41–42.)

Kuvasarjalla havainnollistetaan (kuvio 1). veren sivelyvalmisteen tekeminen vaiheittain. Kuvat olemme ottaneet itse esimerkiksi mediatekniikan opiskelijoille valmistautuessamme videoprojektiin.



Kuvio 1. Veren sivelyvalmisteen tekeminen vaiheittain.

4.3 Veren sivelyvalmisteen kiinnittäminen ja värjäys

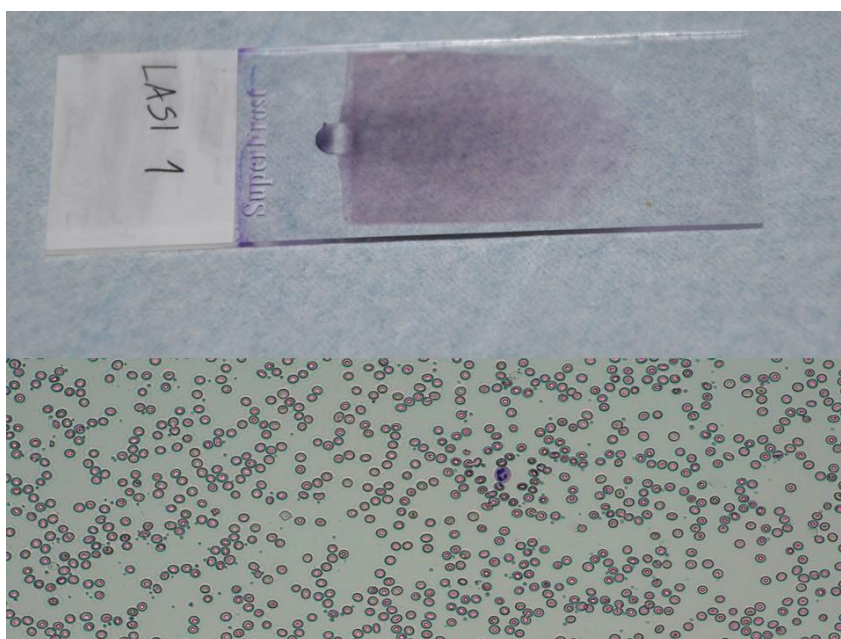
Värjäysprosessi alkaa metanolilla kiinnittämällä, joka johtaa solujen proteiinien kiinnittymisen lasille, säilyttää solumorfologia ja estää soluja huuhtoutumasta pois seuraavien vaiheiden aikana (Bain – Lewis 2012: 58). Kiinnittämisen pääkohtia on saada solu kuolemaan yhtäkkisesti, jolloin se on mahdollisimman samanlainen morfologialtaan kuin elävänä. Kiinnittäminen estää solujen autolyysin ja jättää solunsisäiset komponentit mahdollisimman todenmukaiseen muotoon. (Microkrom 2010.)

Veren sivelyvalmisteet värjätään May-Grunwald-Giemsan menetelmällä, joka kuuluu Romanowsky-väreihin ja joita yli 100 vuotta on käytetty hematopoieettisten solujen morfologisessa luokittelussa. Romanowsky-värit sisältävät metyleenisinistä sekä eosiini Y:tä tai eosiini B:tä, jotka tuottavat Romanowsky-värjäys efektin. Tämä muodostaa violetin värin valkosolujen tumassa, esimerkiksi neutrofiilien granuloissa, ja punertavan oranssin värin punasoluissa. Suuri vaihtelu violetin ja punaisen sävyissä mahdollistaa solujen

ominaisuuksien erottelun. (Burns – Ehzan 2014: 885.) Värjäysliuosten sisältämät komponentit erottelevat solujen rakenteita sitoutumalla eri tavoin happamiin ja emäksisiin ryhmiin (Mahlamäki 2004: 277).

5 Veren sivelyvalmisteen laatu

Clinical and Laboratory Standards Institute suosittelee valkosolujen laskentaa varten käyttämään manuaalista sivelymenetelmää (Turgeon 2004:33). Kun sivelymenetelmä suoritetaan asianmukaisesti, riittävän suuri alue on käytettävissä mikroskooppiseen tutkimukseen. Tällä alueella solut eivät ole kosketuksissa toisiinsa ja kokonaan eroteltu toisiinsa. (Houwen 2000: 2.) Yleisesti tehdään kaksi sivelyvalmistetta. Jos sivelyvalmiste tehdään kapilaariverestä, toivotaan useampi kuin kaksi lasia (Turgeon 2004:33). Alla esitettynä (kuvio 2) liian ohut sively, jossa punasolut ovat irrallisina ja kaukana toisistaan pääosin, jolloin hyvää analysointialuetta ei ole riittävästi.



Kuvio 2. Liian ohut veren sivelyvalmiste ja sen mikroskooppinen näkymä.

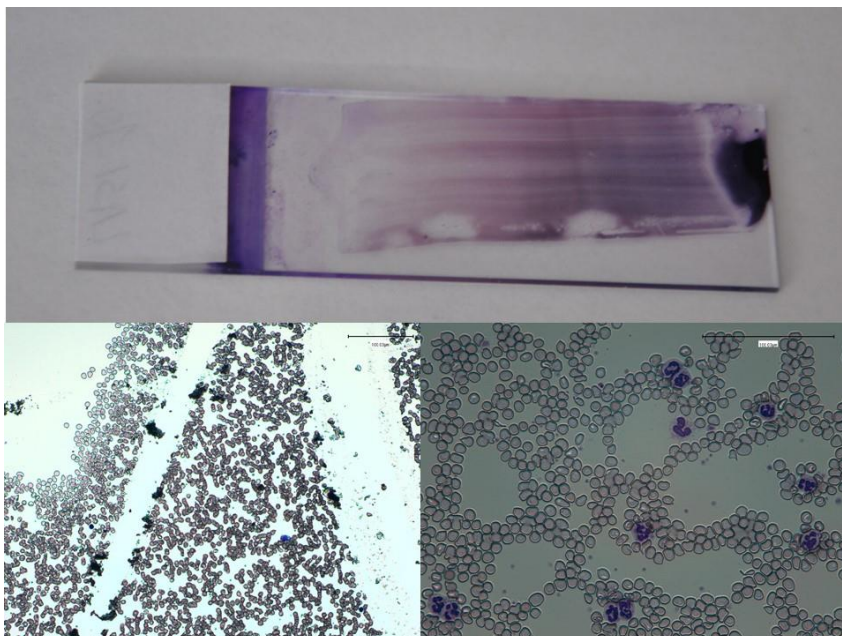
5.1 Sivelyvalmisteen tekemiseen liittyvät laadulliset tekijät

Oikea vetotekniikka on edellytys laadukkaalle veren valmisteelle, joten sivelyvalmisteen tekeminen on harjaannuttava käytännössä (Mahlamäki 2004: 276). On erittäin tärkeää,

että valmiste sivellään välittömästi sen jälkeen, kun veripisara on laitettu objektilasille. Viive ja veripisaran seisottaminen objektilasilla aiheuttaa sedimentoitumisen objektilasille pisaran alueelle. Mikäli vetolasin asettamisen jälkeen vetoa viivytetään, takertuvat solut vetolasiin ja kasaantuvat valmisteen loppupäähän. (Siitonen-Jansson 2007: 101.) Myös se voi aiheuttaa neutrofiilien ja monosyyttien sijoittumisen sivelyn reunoille. (Turgeon 2005: 33.)

Objektilasi ja vetolasi tulisi olla puhtaita, pölyttömiä ja rasvattomia (Shafer 1998: 22). Jos lasi on rasvainen tai pölyinen, voi sivelyvalmisteesta tulla epäsäännöllinen tai raidallinen. Tällöin valmisteessa voi ilmetä myös hajanaisia paikkoja. (Bain - Lewis 2012: 58.) Pölyn ja lian tarttumista lasille tulee välttää kaikissa vaiheissa. Yleinen virhe on tehdä sivelyvalmiste naarmuisella vetolasilla. Tällöin veri leviää vetolasille huonosti ja aiheuttaa sivelyyn epätasaisuutta ja loppupäähän useita ”häntiä”. (Microkrom 2010.)

Kuvio 3 havainnollistaa reikäisen ja epätasaisen veren sivelyvalmisteen makroskooppisen näkymän sekä kaksi versiota mikroskooppinäkymästä. Vasemman alakulman mikroskooppikuvassa näkyy vedosta aiheutuneita naarmuja ja oikealla alakulmassa solut on jakautunut lasille epätasaisesti aiheuttaen täysin soluttomia alueita eli ”reikiä” sivelyyn.

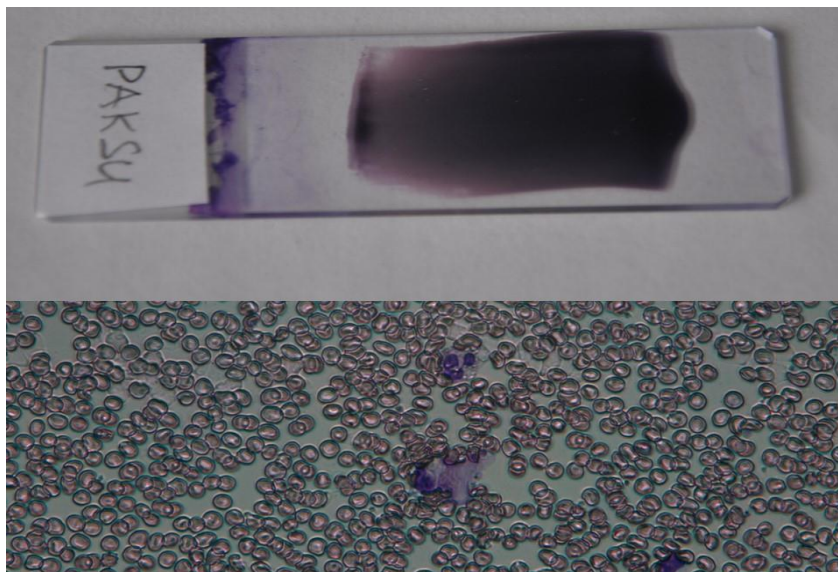


Kuvio 3. Epätasainen ja reikäinen veren sivelyvalmiste ja sen mikroskooppinen näkymä.

Sivelyvalmisteen paksuuteen vaikuttaa veripisaran koko, potilaan hemoglobiini arvo, vetolasin kulma ja vedon nopeus (Houwen 2000: 3). Liian suuresta pisarasta tulee paksu ja pitkä sively, liian pienestä pisarasta tulee ohut ja lyhyt sively. Suuresta vetokulmasta ja nopeasta vedosta tulee lyhyempi ja paksumpi sively. Pienestä vetokulmasta ja hitaasta vedosta tulee pidempi ja ohuempi sively. Hidas veto voi aiheuttaa epäsäännöllisyyttä ja vaikuttaa solujen sijainnin jakautumiseen lasilla. Myös liian kovasta painamisesta tulee ohuempi sivelyvalmiste. Kosteus viivästyttää sivelyn kuivumista ja voi aiheuttaa muutoksia soluihin. (Turgeon 2005: 33–34.) Valmisteen sopiva paksuus on tärkeä, jotta valmiste kuivuu nopeasti ja solumorfologia säilyy hyvänä. (Mahlamäki 2004: 276.) Sivelyvalmiste tulee kuivata välittömästi heilutteleamalla sitä ilmassa (Bain – Lewis 2012: 58).

Jos sivelyvalmiste on liian paksu, jäävät punasolut toistensa päälle hankaloittaen analysointivaihetta. Sively voi myös värjäytyä liian siniseksi, kun soluja on liikaa lasilla. Tämä voi hankaloittaa etenkin parasiittien tunnistusta. Liian vähäinen verimäärä voi olla riittämättömän analysoitavaksi ja värjäytyvyys jäädä huonoksi. Liian ohut sively saattaa kiinnittyä huonosti ja hajota värjäysvaiheessa. Veripisaran tulisi olla keskellä lasia, jotta analysointi olisi helpompaa. (Microkrom, 2010.)

Alla esitettynä (kuvio 4) liian paksu veren sivelyvalmiste, joka on värjäytynyt hyvin tummaksi. Analysoitavaa aluetta ei löydy riittävästi, koska solut ovat suurilta osin päällekkäin. Morfologisten muutosten tulkitseminen on hankalaa värjäytyneisyyden takia.



Kuvio 4. Liian paksu sivelyvalmiste ja sen mikroskooppinen näkymä.

Värjäysvaiheessa sakkatahrat voivat tarttua lasille ja aiheuttaa artefaktaa ja sekaannusta punasolujen tarkastelussa. Värjäysliuos saattaa kontaminoitua aiheuttaen levien ja muiden mikrobien kasvua, mikä aiheuttaa artefaktaa sivelyvalmisteisiin värjäysprosessissa. (Microkrom, 2010.)

Tietyissä fysiologisissa olosuhteissa, esimerkiksi anemiassa, polysytemiassa, multippe-
lissa myelomassa ja kylmäagglutiniinitaudissa, laadukkaan veren sivelyvalmisteen teke-
minen on vaikeaa johtuen epänormaalista veren koostumuksesta. Sivelyvalmisteen pak-
suutta voi säädellä veren määrällä, vetonopeudella tai muutamalla vetokulmaa. (Burns
2014: 884.)

Yleiset laatua huonontavat tekijät ovat huono vetotekniikka, hidas kuivaus kosteassa il-
massa, riittämätön ja myöhäinen kiinnitys ja kiinnitysliuoksien sisältämä vesi. Tietyt so-
lutyypit voivat vaurioitua helposti sivelyvalmistetta valmistettaessa, erityisesti atyyppiset
lymfosyytit leukemiaa sairastavilla potilailla. Joskus voidaan lisätä albumiinia verinäyt-
teeseen ennen sivelyvalmisteen tekoa suojaamaan tällaisia soluja repeämiseltä. Hidas
kuivaus aiheuttaa solujen kutistumista. Lisäksi yli 3 % vettä kiinnitysliuoksessa voi ai-
heuttaa morfologisia muutoksia. (Houwen 2000: 4.)

Oheisessa taulukossa (taulukko 1) esitetään veren sivelyvalmisteen teon tyypilliset vir-
heet. Ne on koottu valmisteen makroskooppisen ja mikroskooppisen tarkastelun perus-
teilla ja seuraus sarakkeessa esitellään morfologiseen tarkasteluun aiheutuneet ongel-
mat. Syy sarake esittelee mahdollisia syitä, mitkä ovat johtaneet veren sivelyvalmisteen
huonoon laatuun. Nämä aiheuttavat epäluotettavuutta tuloksiin.

Taulukko 1. Veren sivelyvalmisteen teon tavalliset virheet (Siitonen S., Jansson, S-E)

Virhe	Syy	Seuraus
Ohut sively	Hidas veto Pieni vetokulma	Punasoluissa ei keskus- vaalennusta Leukosyytit harvassa
Paksu sively	Nopea veto Suuri vetokulma	Punasolut päällekkäin Leukosyytit pyknoottisia, eli kutistuneita
Lyhyt sively	Lyhyt veto Pieni verimäärä	Kapea hyvälaatuinen alue
Atyyppinen solumorfologia	Vanha verinäyte Aluslasin laatu	Erittelyvaikeuksia
Solujen epätasainen jakauma	Epätasainen veto Hyytynyt näyte Vedon teossa viive Huono vetolasi	Epäluotettava erittelytulos
Valmisteessa reikiä, viiruja	Likainen aluslasi Valmiste värjätty kosteana Huono vetolasi	Artefaktipoikilosytoosia Epäluotettava erittelytulos

Makroskooppisesti, asianmukaisesti tehty ja värjätty sivelyvalmiste pitäisi näyttää vaaleapunaiselta ohuessa osassa ja siniseltä/violetin sävyiseltä paksummassa osassa. Mikroskooppisesti, punasolujen tulisi olla vaaleapunaisia ja valkosolujen tumien enemmän violetteja kuin sinisiä. Värjäys pitäisi olla yhdenmukainen koko lasilla eikä väri saostua. (Houwen 2000: 5.)

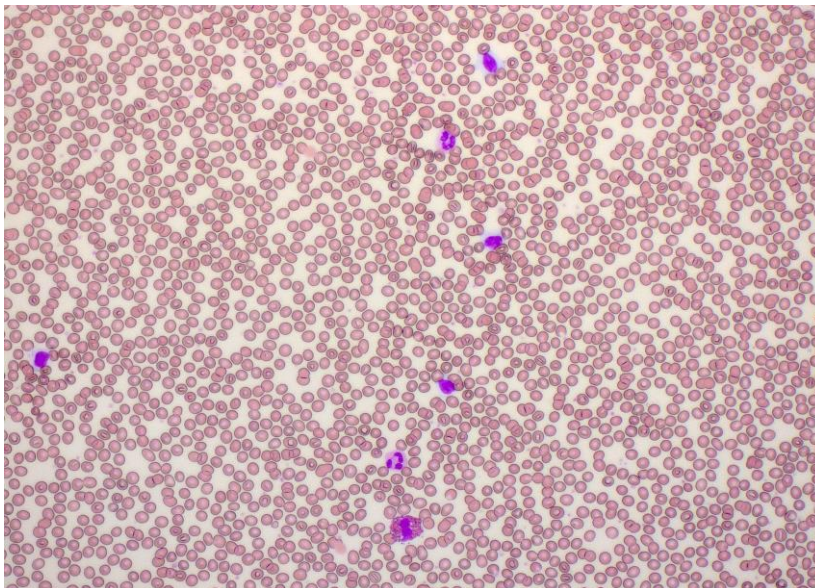
Ihanteellinen paksuus on kun mikroskoopilla tarkastellessa punasolut on osin päällekkäin. Leukosyytit tulisi olla helposti tunnistettavissa lähes koko valmisteessa. Huonosti tehdyssä valmisteessa monosyytit ja suuret leukosyytit työntyvät objektilasin loppuun ja reunoille. (Bain - Lewis 2012: 58.)

Laadukkaan veren sivelyvalmisteen (kuvio 5 ja 6) ominaisuudet:

- Sivelyn pituus noin 2,5 cm
- Sively ohenee tasaisesti loppupäätä kohti
- Sivelyn reunat ovat suorat
- Sively ei kosketa objektilasin reunoja, eikä mene reunoista yli
- Sivelyssä ei viiruja, aaltoja eikä reikiä (Burns - Ehzan 2014: 884.)



Kuvio 5. Hyvin tehty veren sivelyvalmiste makroskooppisesti tarkasteltuna



Kuvio 6. Hyvin tehty veren sivelyvalmiste mikroskooppisesti tarkasteltuna. Kuva: © Mervi Aalto

5.2 Sivelyvalmisteiden säilymiseen vaikuttavia tekijöitä

Sivelyvalmiste tulisi kiinnittää mahdollisimman pian sen tekemisen jälkeen, mutta viimeistään 48 tunnin kuluttua. Jos sivelyvalmiste säilytetään huoneenlämmössä kiinnittämättä pidempään kuin päivän, voi kuivunut plasma värjääntyä värjäysprosessissa vaa-leansiniseksi ja aiheuttaa hankaluuksia analysoinnissa. Lisäksi solujen morfologiaan voi tulla vääristymiä. Sienet voivat alkaa kasvamaan lasilla ja aiheuttavat artefaktaa, mikäli näytettä ei kiinnitetä riittävän aikaisin. (Microkrom 2010.)

Sivelyvalmiste voidaan päällystää peitinlasilla, mutta yleisesti peitinlasi ei ole tarpeellinen. Kuitenkin, jos useat henkilöt joutuvat tarkistelemaan laseja tai laseja täytyy säilyttää pidempiä aikoja, peittäminen suojaa mekaanisilta vaurioilta, värien haalistumiselta sekä vähentää tartuntavaara lasien käsittelemässä. Peitinlasien pitäisi olla erittäin puhtaita, sileitä, täysin tasaisia, värittömiä ja vedenpitäviä. Peitinlasit olisi säilytettävä suljetussa kotelossa, kun ne eivät ole käytössä. Suuressa osassa laboratorioista sivelyvalmisteiden päällystäminen on automatisoitu. (Houwen 2000: 5.)

Peitinlasin kiinnittämiseen käytetään epäorgaanisia liuottimia, tolueenia ja ksyleenia. Ko-keiltu korvata niitä kanadalaisen kuusen balsamilla, joka oli epätydyttävä, koska siitä tuli keltainen väri eikä se kuivunut hyvin. Liima-materiaalin viskositeetti tulisi olla alhai-nen, jolloin saadaan ehkäistyä kuplien muodostumista ja kiinnittävä liimakerros on ohut. Materiaali ei saa menettää tarttumiskykyä ajan myötä. Myöskään sen ei pitäisi vaikuttaa optiseen analyysiin eikä haalista värejä. Liima-aineen käyttö päällysteenä ilman peitin-lasia ei ole suositeltava, koska silloin sivelyvalmisteet eivät ole niin kestäviä. Kun laseja arkistoidaan sekä katsotaan useita kertoja, ne saavat kerätä pölyä ja niihin voi tulla sor-menjälkiä käsittelyssä. (Houwen 2000: 5.)

Bain B. (2005: 506) mukaan on pitkäaikaisessa säilytyksessä tärkeää, jos mahdollista, säilyttää veren sivelyvalmisteita samalla tavalla kuin histologisia kudoksenäytteitä. Käytän-nössä tällainen säilytys on helppo saavuttaa, jos potilaasta on otettu myös luuydinnäyte, mutta vaikeampaa, jos diagnostinen sivelyvalmiste on otettu pelkästään. Jotkut labora-toriot säilyttävät kaikki hematologin tai patologin tarkastamat lasit. Tämä voi aiheuttaa varastointiongelmia. Tulevaisuudessa on mahdollista, että epänormaalit valmisteet säi-lytetään digitaalisessa muodossa.

6 Opetusvideo veren sivelyvalmisteen tekemisestä

Veren sivelyvalmisteen tekeminen on taito, jonka oppii riittävästi harjoittelemalla. Erilaiset oppimistyyli-tylit vaikuttavat oppimiseen ja siksi olemme pyrkineet tekemään videosta niin visuaalisen kuin auditiivisenkin. Havainnollistavien kuvien avulla pyritään vaikuttamaan vastaanottajia ajattelemaan näytteiden käsittelyssä myös analyysivaihetta.

6.1 Oppimistyyli-tylit ja taitojen oppiminen

Oppimistyyli-tyllä tarkoitetaan henkilökohtaista ja pysyvää taipumusta tiettyihin oppimistapoihin. Oppimistyyli-tylit ilmenevät konkreettisissa tilanteissa ja erilaisina tapoina suuntautua oppimiseen. Oppimisvalmiuksien kehittyessä ihminen pystyy kuitenkin vaihtelevaan oppimistapaansa oppimistilanteiden mukaan. Älykkyys ei vaikuta oppimistyyli-tyliin vaan kyseessä on yksilöllinen tapa prosessoida tietoa. (Tynjälä 1999: 111–112.)

Aistiperustainen oppimistyyli-tylien luokittelu määrittää oppimistyyli-tylit neljään eri ryhmään. Nämä ryhmät ovat visuaalis-verbaalinen, visuaalis-nonverbaalinen, auditiivis-verbaalinen ja kinesteettis-taktiilinen oppimistyyli. Visuaalis-verbaalinen oppija oppii parhaiten muistamalla sanat ja numerot. Visuaalis-nonverbaalinen oppija kiinnittää huomiota kuviin ja oppii niiden kautta. Auditiivis-verbaalinen oppija oppii kuuntelemalla ja kinesteettis-taktiilinen oppija parhaiten koskettelemalla ja tunnustelemalla ja käsittelemällä. Yleensä oppija ei edusta pelkästään yhtä oppimistyyli-tyliä, mutta yksi tyyli-tyleistä on ominaisempi. (Prashnig 2000: 113.)

Kinesteettisiä eli toiminnan ja tekemisen avulla oppivia on 30–50% ihmisistä. Ihmisiä, joilla näköaisti on vahvin oppimiskanava, on 30–40% ja kuuloaistilla parhaiten oppivia on vähiten eli 20–30%. (Leskinen 2015.)

Taitojen oppimiseen tarvitaan aina harjoittelua varsinkin motorisissa suoritteissa. Aluksi oppiminen tapahtuu havainnoiden kokeneemman tekijän toimia mutta myöhemmin oma reflektointi nousee oleellisemmaksi osaksi prosessia. Erilaiset kokonaisuudet voidaan jaotella osiin oppimisen helpottamiseksi mutta tärkeää on myös hahmottaa osataitojen merkitys kokonaisuuteen. (Salakari 2007: 15–24.)

Taitojen oppiminen voidaan jakaa kolmeen vaiheeseen, jotka ovat kognitiivinen vaihe, kiinnittämisvaihe ja automaatiovaihe. Kognitiivisessa vaiheessa opetellaan työn periaatteet ja analysoidaan menettelytapoja sekä hahmotellaan odotuksia ja mahdollisia virhelähteitä. Tässä vaiheessa huomioidaan asiat, joita tulee korostaa taidon kannalta. Kiinnittämisvaiheessa paneudutaan harjoittelemaan taitoa ja löytämään oikeat käyttäytymismallit. Tässä vaiheessa toistojen avulla soveltumattomat toimintatavat ja virhesuoritukset vähenevät. Automaatiovaihe aikaansaa suoritusnopeuden ja tarkkuuden paranemista sekä stressinsietokyvyn ja häiriötekijöiden poissulkemisen kasvua. (Salakari 2007:25.)

Demonstrointi voi toimia taitojen opetuksessa, mutta siinä tulee huomioida oppijan taitotaso. Sanallisesta kuvailusta voi olla hyötyä demonstroinnin yhteydessä. Jotta oppiminen olisi helpompaa, voidaan suoritus jakaa osiin, joita harjoitella tai suoritusta voidaan hidastaa tarvittaessa, jotta oppija pystyy toistamaan vaiheet. Tilannesidonnaisuus eli taidon oppiminen tietyssä paikassa ja ajassa ja asiayhteydessä on tärkeää. Taitojen oppiminen vaatii riittävää harjoittelua ja palautteen saaminen on olennaista taitojen kehittymisen kannalta. Liian nopea siirtyminen vaikeisiin tehtäviin aiheuttaa usein suorituksen huonontumista. Informaatioylikuormaa tulee välttää esimerkiksi muodostamalla yksittäisistä asioista laajempia kokonaisuuksia, pitämällä taukoja ja valikoimalla informaatiota. Tällöin työmuistin kapasiteetti 5-9 hahmotusyksikköä ei ylity. Kun taitoa on harjoitellut tarpeeksi, siitä muodostuu mentaalinen malli aivoihin, jolloin taidon pystyy palauttamaan pitkänkin ajan kuluttua. (Salakari 2007: 77–93.)

6.2 Käsikirjoituksen tekeminen

Audiovisuaalinen viestinnällä tulee olla tavoitteet, jotta valmiista tuotteesta tulee selkeä ja se tavoittaa sekä vaikuttaa haluttuun kohderyhmään. Mitä tarkemmin kohderyhmä on määritetty, sitä helpompi on rajata ja linjata ohjelmaa koskemaan juuri tätä ryhmää. Ennen ohjelman tekoa kannattaa miettiä myös muita viestintätapoja ja niistä saatavia hyötyjä ja haittoja. Suhteessa kontaktien määrään video on edullinen viestintäväline. Videota on myös helppo muokata ja levittää eri muodoissa. Jos videolla on ennalta määritelty käyttötapa, voi miettiä sopivia vaikutuskeinoja, jotka kohdentuvat siihen. (Aaltonen 2003: 12–19.)

Ohjelman teko alkaa käsikirjoituksen kirjoittamisesta. Käsikirjoitus rajaa aiheen ja toimii kommunikointivälineenä tilaajan sekä työryhmän välillä. Se linjaa myös resursseja ja

budjettia. Hyvin tehty käsikirjoitus säästää aikaa kuvauksissa ja toteutuksessa. Käsikirjoituksen tekeminen tapahtuu vaiheittain ja ennen varsinaista käsikirjoitusta voidaan tehdä synopsis, treatment ja kohtausluettelo. Synopsiksella tarkoitetaan ideointivaiheessa tehtyä hahmotelmaa, joka sisältää erilaisia vaihtoehtoja käsikirjoituksesta ja tavoitteista, kohderyhmästä ja käyttötavoista. Tästä tilaaja saa valita sopivimman linjan ja antaa kehitysehdotuksia. (Aaltonen 2003: 30–44.)

Treatment on laajahko tiivistelmä, missä esitellään koko tarina ja juonenkäänteet. Siinä ei kuitenkaan ole vielä selostustekstejä tai repliikkejä. Tässä vaiheessa huomataan yleensä rakenteelliset ongelmat ja pystytään puuttumaan niihin. Kohtausluettelossa on ajallisesti määritelty eripaikat, missä ohjelma etenee. Varsinaisessa käsikirjoituksessa nämä kaikki on nidottu yhteen ja luodaan yksityiskohtainen kuvaus tapahtumista. (Aaltonen 2003: 104–114.)

Toteutimme käsikirjoituksen yhdessä YML:n henkilökunnan kanssa niin, että YML:n henkilökunta osallistui prosessiin asiantuntijaryhmänä, jonka kautta saimme palautetta ja muokkasimme ja painotimme haluttuja kohtia. Tavoitteet ja kohderyhmän YML oli määritellyt tarkasti, mikä helpotti suunnittelutyötä. Kohderyhmänä ovat jo aikaisemmin siveilyvalmisteita tehneet näyttölaboratorioden työntekijät, joille tarkoituksena on muistuttaa laadukkaasta tekniikasta ja sen vaikutuksista analyysiin sekä kannustaa harjoitteluun ja kertaamaan tekniikkaa.

Käsikirjoituksemme (liite 2) esittelee veren siveilyvalmisteen tekemisen ensin kokonaisuutena ja sitten osiin jaettuna. YML rajasi, että opetusvideolle halutaan tekovaiheet lähtien putken huolellisesta sekoittamisesta aina kuljetuskoteloon laittamiseen asti. Osiin jaetussa osassa pyritään kiinnittämään huomioita YML:n haluamiin kohtiin. YML halusi muun muassa, että korostaisimme putken sekoitusta, puhtaita ja ehjiä tekovälineitä. Lisäksi korostamme siveilyvalmisteen oikeaa pituutta ja paksuutta, sekä vetokulmaa ja nopeaa kuivaamista. Lopussa meillä on esimerkkeinä värjäämättömiä ja värjättyjä siveilyvalmisteita, joista havainnollistamme hyvän ja huonon vedon erot vielä mikroskooppikuvien avulla.

6.3 Projektin aikataulu ja eteneminen

Videoprojektimme alkoi kunnolla lokakuussa alkupalaverissa, jossa läsnä oli lisäksi YML:n työryhmä. Tällöin emme olleet vielä varma videoinnin toteutuksesta mutta päätimme alkaa työstämään jo ideointia ja teoriapohjaa projektiin. Lisäksi mietimme vaihtoehtoisia tapoja tuottaa ohjausmateriaalia, mikäli opetusvideo ei jostain syystä onnistuisi. Tarkoituksena oli saada valmis opinnäytetyö ja opetusvideo huhtikuuhun 2015 mennessä.

Projektissamme aloitimme ideoimalla, millainen videon tulisi olla. Teimme myös oman koevideoinnin, koska halusimme arvioida videon kestoa ja mitä siihen tulisi mahtumaan. Lisäksi otimme kuvia mediatekniikan opiskelijoita varten, jotta he ymmärtäisivät alusta asti, mitä on tarkoitus kuvata. Ideointia käytiin läpi myös ensimmäisissä palavereissa YML:n henkilökunnan kanssa loka-, marras- ja joulukuussa 2014. Tämän pohjalta tuotimme synopsiksen (liite 1), jossa oli 4 eri tapaa toteuttaa käsikirjoitus. Näistä saimme kommentin YML:n puolelta ja sen mukaan aloimme laatia käsikirjoitusta. Käsikirjoituksemme oli enemmänkin treatment-tyylinen tiivistelmä, koska emme hahmottaneet vielä tarvittavia elementtejä. Vasta kun saimme mediatekniikan puolelta varman kiinnityksen ja opiskelijaryhmän tammikuun 2015 lopussa, pystyimme tarkemmin sopimaan elementeistä, mitä videoon tulisi.

Mediatekniikan opiskelijat tekivät käsikirjoituksemme pohjalta story boardin eli kuvakäsikirjoituksen, jonka avulla pystyimme suunnittelemaan käytettäviä grafiikoita sekä saimme kaikki kokonaiskuvan ja varmistuksen, että asiat on ymmärretty YML:n haluamalla tavalla. Kuvauspaikaksi sovimme Metropolian oppilaitoksen luokan, koska se takasi rauhallisen kuvaustilanteen. Pienin korjauksin ja muutaman palaverin jälkeen pääsimme viimein kuvaamaan videota helmikuun 2015 puolivälissä. Olimme varautuneet kahteen kuvauspäivään mutta saimmekin riittävästi materiaalia jo ensimmäisenä päivänä.

Maaliskuussa pidimme palavereja, joissa käsitelimme keskeneräistä videota ja elementtejä, joita halusimme videoon. Tammikuun alussa olimme neuvotelleet mediatekniikan opiskelijoiden kanssa selostuksen käytöstä videossa. Päädyimme kysymään aikaisemmin selostuksia tehneeltä opettajalta, voisiko hän selostaa videolla. Mediatekniikan opiskelijoiden ja opettajaohjaajan puolelta mielipide oli, että olisi hyvin haasteellista tällä ai-

kataululla ottaa selostuksen puhujaksi henkilöä, joka ei tällaista ole aiemmin tehnyt. Ääninäyttelemisessäkin on omat haasteensa. Laadimme selostuskäsikirjoituksen (liite 3) maaliskuussa ja maaliskuun lopulla selostusnauhoitukset hoitivat mediatekniikan opiskelijat.

Kokonaisuutena meillä oli maaliskuun lopussa kasassa käsikirjoituksen pohjalta tehty opetusvideo, jossa kuvan lisäksi käytettiin tehosteena selostusta ja grafiikoita sekä tekstiä. Grafiikoilla havainnollistettiin oikeaa vetokulmaa ja sivelyvalmisteen muotoa, sekä putken huolellista sekoittamista. Selostuksella käytiin läpi kaikki vaiheet, sekä laatuun vaikuttavia tekijöitä.

Projektista syntynyt ohjausvideo tullaan julkaisemaan YML:n internet-sivuilla ja on sitä kautta saatavissa YML:n asiakkaille. YML omistaa oikeudet videoon ja sen materiaaleihin. Opinnäytetyö julkaistaan Theseuksessa ilman videota. Projektin osallistuneilla on oikeus käyttää työtä referenssinä.

7 Pohdinta

Viitekehyksen etsimiseen ja rajaamiseen meni yllättävän paljon aikaa, koska suurin osa tiedosta oli englanniksi ja suuri osa löytämistämme artikkeleista oli tiivistelmää lukuun ottamatta maksullisia. Tiedon etsintä helpottui loppua kohden, kun alkoi hahmottamaan paremmin aihepiiriin liittyvää sanastoa englanniksi. Olisimme halunneet esitellä sivelyvalmisteen säilyvyyttä enemmänkin mutta ajalliset resurssit loppuivat kesken löydettyyn tietoon nähden.

Projektin kaikki osapuolet sitoutuivat projektiin hyvin ja palaverissa pääsimme aina paljon eteenpäin kerralla. Lisäksi viestintä oli sujuvaa sähköpostitse ja YML:n puolesta otettiin kantaa hyvin kysymyksiimme. Itse olemme tyytyväisiä lopputulokseen varsinkin huomioiden tiiviin aikataulun, joka aiheutui mediatekniikan kiinnityksestä vasta tammikuun puolivälissä. Vielä suunnitelmaseminaarien aikaan meillä ei ollut varmuutta videon toteutuksesta ja seminaaripäivänämme saimme vielä viestin, ettei mediatekniikasta tulisi opiskelijoita projektiimme. Onneksemme kuitenkin ryhmä järjestyi ja projekti saatiin käyntiin.

Projektimme alun epävarmuus ohjausmateriaalin muodosta viivästytti projektin alkua. Lisäksi aikaa ja energiaa meni suunnitellessa varavaihtoehtoja. YML lupasi kaikki materiaalit sekä suorittajan videolle, mikä oli hyvä, jotta saimme videosta laadukkaan ja ammattilaisen tekemään varmasti teknisesti oikein.

Tuote on mielestämme hyvä ja siitä selkeästi näkee ja hahmottaa tekovaiheet muutamasta kuvakulmasta. Kuitenkin olimme alussa ajatelleet lyhempää videota, varsinkin ensimmäinen osa, jossa näytetään kokonaisuudessaan sivelyvalmisteen teko, on pitkäkö, noin 2 minuuttia. Tämä asetti haasteita osiin jaetun suorituksen suhteen sekä selostuksen osalta. Yhteensä video on noin 5 minuuttia.

Alussa olimme jo miettineet selostusta videoon, mutta aikataulujen vuoksi pystyimme tekemään selostuskäsikirjoituksen vasta videon kuvausten jälkeen. Tämä oli huomattavasti hankalampaa näin, kun emme olleet osanneet huomioida selostuksen kestoa ja sisältöä kuvauksissa. Nyt emme ehkä saaneet kaikkea haluamaamme selostusta jaettua kaikkein ideaalisempiin kohtiin, vaan jouduimme pätkimään tietoa videon ajoituksen mukaan.

Videossa on nähtävissä myös kuvausaikana tehtyjä virheitä, kuten välineiden esittelyssä pöydällä oleva sidetaitos, jota ei loppuvideossa enää olekaan ja lopussa hyvien ja huonojen esimerkkien objektilaseja ei ole kaikkia nimetty, vaikka sitä painotetaankin videolla. Näitä ei välttämättä huomaa ensimmäisellä katselukerralla ja eivät sinänsä ole mielestämme niin oleellisia, että kuvauksia täytyisi uudelleen järjestää.

Mielestämme tavoitteemme selkeästä ja ymmärrettävästä ohjausvideosta täyttyivät. Ensikertalaisille ei videon välityksellä välttämättä sivelyvalmisteen teko avautuisi, mutta huomioiden rajatun kohderyhmän pyrimme käyttämään sellaista termistöä, joka tulisi olla tuttu. Lisäksi koitimme huomioida, ettei videolle tulisi liikaa informaatiota vaan se pysyisi selkeänä ja vain pääkohdat painottuisivat. Opetusvideo on riittävän yksityiskohtainen ja painottaa tärkeimpiä tekovaiheita. Sively näytetään videolla kahteen kertaan, jolloin tulee kerrattua vielä tekeminen.

Jatkokysymyksinä työstämme jäi videon vaikuttavuuden arviointi. Onko opetusvideosta oikeasti hyötyä asiakkaille, katsovatko he sitä ja tuoko se jotain uutta sivelyvalmisteen tekoon. Lisäksi jäimme miettimään, olisiko kirjallinen ja kuvallinen ohjeistus pelkästään

tai lisäksi tuonut lisäarvoa. Nyt emme pystyneet vaikuttavuutta tai videon levikkiä arvioimaan, kun saimme videon valmiiksi vasta huhtikuun alussa.

YML on osaltaan esittänyt opetusvideota toimipisteessään muutamaan kertaan. Eräässä osastokokouksessa paikalla olleet noin 20 laboratoriohoitajaa/bioanalytikkoja eivät löytäneet videosta asiavirheitä ja videoon oltiin tyytyväisiä. Etenkin selostustekstin lisäämisen jälkeen videota on kuvattu rauhalliseksi ja selkeäksi. Jotakuta oli selostajan ääni hieman haitannut ja hän oli kuvannut sen puuduttavaksi. Kaiken kaikkiaan YML:n puolelta oltiin tyytyväisiä videon laatuun ja se koettiin merkityksekkääksi asiakkaiden ohjauksessa.

Opetusvideo on YML:n ensimmäinen ja keskustelua on ollut, pitäisikö ohjausvideoita olla enemmän heidän asiakkailleen. Videon vaikuttavuuden näkee vasta ajan mittaan, jolloin YML voi arvioida, onko lähetetyt sivelyvalmisteet parantuneet ja onko video tarpeeksi helposti saatavissa ja käytössä.

Videoprojekti on ollut myös meille opettavainen ja parantanut myös meidän hematologista osaamista ja preanalytiikkaan liittyvää tietoperustaa. Lopun tiiviistä yhteistyöstä johtuen videointi ja sen jälkeen tapahtuneet editointi ja muokkaus sujuivat hyvin, joskin alun epävarmuus aiheutti epävarmuutta ja kiireellisyyttä projektin loppuvaiheeseen. Mikäli olisimme pysyneet alkuperäisessä aikataulussa ja saaneet jo suunnitteluvaiheessa tukea mediatekniikkaan, olisimme saaneet osat toimimaan videolla paremmin ja kuvauksissa olisimme osanneet ottaa huomioon jo videon ajoittamista grafiikan ja selostuksen suhteen. Kuitenkin olemme tyytyväisiä projektiin kokonaisuutena ja vastaavuudessa osaamme ajoittaa ja huomioida osakokonaisuuksia projekteissa paremmin. Työnjaolliset tekijät korostuivat myös projektin aikana ja kommunikointitaitomme kehittyivät osana projektiryhmää.

Lähteet

Aaltonen, Jouko 2003. Käsikirjoittajan työkalut. Suomalaisen Kirjallisuuden Seura. Tampere: Tammer-Paino Oy.

Bain, Barbara J. – F.R.A.C.P. – F.R.C.Path. 2005. Diagnosis from the Blood Smear. The New England Journal of Medicine. Verkkodokumentti. <<http://www.scmhematologia.org/Documentos/Facultad/DIAGNOSTICO%20EXTENSION%20SP-NEJM-05.pdf>>. Luettu 27.03.2015.

Bain, Barbara J. – Lewis, S. Mitchell 2012. Preparation and staining methods for blood and bone marrow films. Teoksessa Bain Barbara J.- Bates Imelda – Laffan Mike A.- Lewis S. Mitchell: Practical Haematology. 11 painos. Kiina: Churchill Livingstone. 57-68.

Burns Cheryl, M.S. – Ehsan Aamir, M.D. 2014. Hematology procedures. Teoksessa: McKenzie Shirlyn B. Clinical laboratory Hematology. Second Edition. Edinburgh Gate: Pearson Education Limited. 876-912.

Cornet E. – Behier C. – Troussard X. 2012. Guidance for storing blood samples in laboratories performing complete blood count with differential. International Journal of Laboratory Hematology, Jul. 24.

Elo, Ismo 1997. Käyttöfysiikka Oy. Verkkodokumentti. <http://materiaalit.intertix.fi/fi/opintojaksot/5luonnontieteet/fysiikka/fysiikka1/nesteiden_ja_kaasujen>. Luettu 14.2.2015.

Gene L. Gulati - Lawrence J. Hyland - William Kocher - Rolland Schwarting 2002. Changes in Automated Complete Blood Cell Count and Differential Leukocyte Count Results Induced by Storage of Blood at Room Temperature. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 126 (3). 336-342.

Globe Scientific Inc 2013. Frosted. Verkkodokumentti. <http://www.globescientific.com/frosted-c-22_336_339.html>. Luettu 7.3.2015.

Globe Scientific Inc 2013. Micro-Hematocrit Capillary Tubes - Glass. Verkkodokumentti. <http://www.globescientific.com/micro-hematocrit-capillary-tubes-glass-c-6_611.html>. Luettu 7.3.2015.

Houwen Berend 2000. Blood Film Preparation and Staining Procedures. Laboratory hematology 6: 1-7. Carden Jennings Publishing Co., Ltd. Verkkodokumentti. <http://www.researchgate.net/publication/11431308_Blood_film_preparation_and_staining_procedures>. Luettu 1.3.2015.

ISO 1997. Optics and optical instruments – Microscopes – Slides – Part 1: Dimensions, optical properties and marking. Verkkodokumentti. <<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:8037:-1:ed-1:v1:en>>. Luettu 14.2.2015.

ISO 1997. Optics and optical instruments – Microscopes – Slides – Part 2: Quality of material, standards of finish and mode of packaging. Verkkodokumentti. <<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:8037:-2:ed-1:v1:en>>. Luettu 14.2.2015.

Jury Corrine – Nagai Yutaka – Tatsumi Noriyuki 2012. Collection and handling of blood. Teoksessa: Dacie and Lewis Practical Haematology. Elsevier Churchill Livingstone. 1-9.

Katila, Marja-Leena 2004. Laboratoriotyöturvallisuus mikrobiologisessa työskentelyssä. Teoksessa Penttilä, Ilkka (toim.): Kliiniset laboratoriotutkimukset. Helsinki: WSOY. 369-375.

Knittel Glass. Mikroskope slides. Verkkodokumentti. <http://www.knittel-glaeser.de/home_e/objekttraeger_objekttraeger.htm>. Luettu 14.2.2015.

Leskinen, Raija 2015. Oppimistyylit avain oppimiseen. Verkkodokumentti. <http://www.arfcon.fi/aiku-hanke/lehti_10.htm>. Luettu 14.3.2015.

Mahlamäki, Eija K 2004. Veren kuvan tutkimukset. Teoksessa Penttilä, Ilkka (toim.): Kliiniset laboratoriotutkimukset. Helsinki: WSOY. 268-281.

Matikainen, Anna-Mari – Miettinen, Marja – Wasström, Kalle 2010. Näytteenottajan käsikirja. Helsinki: Edita.

Microkrom 2010. Microscopy stains. Verkkodokumentti. <http://www.tu-lipgroup.com/Common_New/Tech_Pubs_PDF/Microkrom_Tech_Series.pdf>. Luettu 14.3.2015.

Olesinski Raymond L. 1998. Specimen Collection for Hematology and Hemostasis. Teoksessa E.Anne Stiene-Martin – Cheryl A. Lotspeich-Steininger –John A. Koepke: Clinical hematology: Principles, procedures, correlations. Philadelphia: Lippincott. 9-19.

Prashnig, Barbara 2000. Erilaisuuden voima: opetustyyli ja oppiminen. Jyväskylä: Juvva.

Salakari, Hannu 2007. Taitojen opetus. Ylinen: Eduskills Consulting.

Savolainen, Eeva-Riitta 2007. Verinäytteet ja verenkuvatutkimukset. Teoksessa Ruutu, Tapani - Rajamäki, Allan - Lassila, Riitta - Porkka, Kimmo (toim.): Veritaudit. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 85-98.

Shafer Jean A. 1991. Preparation and Interpretation of Periferal Blood Smears. Teoksessa Hoffman Ronald: Hematology: Basic Principles and Practice. USA, 1790-1797.

Shafer Jean A. 1998. Preparation of blood films for examination. Teoksessa E.Anne Stiene-Martin – Cheryl A. Lotspeich-Steininger –John A. Koepke: Clinical hematology: Principles, procedures, correlations. Philadelphia: Lippincott. 20-35.

Siitonen, Sanna – Jansson, Sten-Erik 2007. Morfologiset tutkimukset. Teoksessa Ruutu, Tapani - Rajamäki, Allan - Lassila, Riitta - Porkka, Kimmo (toim.): Veritaudit. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 100-111.

Siitonen, Sanna 2012. Leukosyyttien erittelylaskenta – valkosolujen kummajaisia. Moodi 36 (4). 158-163.

Siloaho, Maritta 2000. Miten saada näyte säilymään analysointiin saakka? Moodi 24 (6). 185-189.

Ted Pella, Inc. 1996-2015. Treated Plastic Microscope Slides. Verkkodokumentti. <http://www.tedpella.com/histo_html/260225.htm>. Luettu 15.2.2015.

Terrell Joan C. 1998. Laboratory Evaluation of Leukocytes. Teoksessa E. Anne Stiene-Martin – Cheryl A. Lotspeich-Steininger – John A. Koepke: Clinical hematology: Principles, procedures, correlations. Philadelphia: Lippincott. 331-345.

Tuokko, Seija – Rautajoki, Anja – Lehto, Liisa 2009. Kliiniset laboratorionäytteet – opas näytteiden ottoa varten. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.

Turgeon, Mary Louise 2005. Clinical Hematology Theory and Procedures. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.

Turgeon, Mary Louise 2010. Clinical Hematology: theory and procedures. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.

Tynjälä, Päivi 1991. Oppiminen tiedon rakentamisena. Konstruktivistisen op-pimiskäsit-tyksen perusteita. Helsinki: Tammi.

Vives-Corróns J-L ym. 2014. Effect of EDTA-anticoagulated whole blood storage on cell morphology examination. A need for standardization. International Journal of Laboratory Hematology 36 (2). 222-226.

Synopsis

Koulutusvideo, noin 5 min

Video-ohjelman tavoitteet

- opastaa sivelyvalmisteen tekeminen
- tuoda esiin sivelyvalmisteen teossa laatuun vaikuttavat kohdat
- motivoida asiakkaita sivelyvalmisteen tekemiseen

kohderyhmä

- YML:n asiakkaat
- laboratoriohenkilökunta, joka on jo aikaisemmin tehnyt sivelyvalmisteita

video-ohjelman käyttötilanteet

- koulutustilaisuudet
- opiskelutilanteet verkossa

Keskeiset ominaisuudet

- tarvittavat tarvikkeet ja niiden valinta
- vetokulma
- sivelyvalmisteen pituus ja paksuus
- väärin tehdyt vedot.

ohjelman elementit

- tekotilanne
- mikroskooppikuvat
- grafiikka

ohjelman rakenteesta ja tyylistä

- Ohjelman tulee olla riittävän selkeä ja mahdollisimman vaiheistettu. Näin katsoja voi palata taakse päin ja kerrata kohdan. Kuvakulmia vaihtelemalla ohjelmaan saisi vaihtelua, jolloin on helpompi seurata, missä kohdassa mennään ja erottaa vaiheet toisistaan.

aikataulu

- kuvaukset on tarkoitus tehdä tammi- ja helmikuussa 2015 ja ohjelman olevan valmis huhtikuun alussa.

Vaihtoehdot

Vaihtoehto 1

TVshopista tuttu asiakkaaseen samaistuminen. Ensimmäiseksi esitellään liioitellusti huonoja sivelyvalmisteita, joissa verta on liikaa tai näkyvästi epätasaisesti. Taustalla ääni

selostaa ”käykö sinullekin usein näin, tuntuuko sivelyvalmisteen teko heprealta, ei hätää, meillä on sinulle ratkaisu..” Sitten käydään sivelyvaiheen teko selostaen ja teksteillä kohdennettuna vaiheittain läpi. Seuraavaksi näytetään tarvittavat välineet kokonaisuudessaan. Sivelyn teko jaetaan vaiheisiin: kapillaarin täyttö, pisaran laittaminen objektilasille, pisaran leviäminen vetolasille, vedon suorittaminen, objektilasin kuivaus ja nimeäminen. Vaiheiden alussa esitellään tarvittavat välineet. Lopuksi esitellään mikroskooppikuvilla, miltä laadukas sively näyttää ja kehoitetaan harjoittelemaan riittävästi, kukaan ei ole seppä syntyessään.

Vaihtoehto 2

Ensimmäiseksi näytetään edellä kuvatuin vaihein sivelyvalmisteen teko. Lopussa esitellään laadukas sivelyvalmiste, jonka jälkeen näytetään väärin tehtyjä tai pieleen menneitä vetoja.

Esitysvaihtoehdot:

Vaihtoehto 1

Videossa on kirjallisesti kerrottu ennen vaihetta, mitä tarvikkeita tarvitaan tai mitä tehdään seuraavaksi. Graafisin keinoin esitellään välineet. Taustalla soi musiikki.

Vaihtoehto 2

Videossa osa esitellään kirjallisesti ja osassa kohdissa selittäen, mitä tehdään tai tarvitaan. Esimerkiksi tarvittavat esineet nimettynä kuvaan ja vedon vaiheista kerrotaan sanallisesti tekemisen mukaan.teen sisältö

Verensivelyvalmisteen tekeminen- käsikirjoitus

Alussa on Yhtyneet Medix Laboratoriot Oy:n logo ja samalla sinisellä teksti ”ohjeet veren sivelyvalmisteen tekoon”. Tämän jälkeen näytetään kokonaisuudessaan sivelyvalmisteen veto, joka myöhemmin jaetaan tarkemmin osiin.

Ensin näytetään kuvattuna kaikki valmisteen tekoon tarvittavat välineet: näyte, kapillaari, vetolasi, objektilasi, liiyykynä ja kuljetuskotelo. Esitellään ne grafiikan keinoin kuvasta tai/ja selostamalla. Korostetaan, että objektilasin tulee olla puhdas ja kuiva. Näytettä sekoitetaan 8-10 kertaa tai mahdollisesti lyhennettynä näytetään rauhallista sekoittamista ja kuvassa näkyy teksti, jossa kerrotaan putkea käännettävän 8-10 kertaa.

Putki avataan ja kapillaari täytetään kallistamalla putkea. Kapillaarin täytön jälkeen ohjeistetaan tekstillä ja/tai sanallisesti asettamaan objektilasille pisara verta. Vetolasi asetetaan objektilasille pisaran taakse ja neuvotaan asettamaan se noin 45 asteen kulmaan, joka havainnollistetaan tekstin ja grafiikan avulla. Tästä vedetään lasia taaksepäin pisaraan ja odotetaan hetki, että pisara leviää vetolasille. Tämä leviämisvaihe esitetään taas tekstillä/selostaen. Vetolasi työnnetään objektilasia pitkin, jolloin saadaan ohut verikerros lasille. Tässä täsmennetään, ettei lasia tule painaa tarpeettomasti tai nostaa kesken vedon, jolloin solut voivat hajota tai jäädä liian kasaan. Objektilasi kuivataan ilmassa heilut-telemalla.

Syntyneen sivelyvalmisteen muoto esitellään; alussa paksumpi pää, joka ohenee loppua kohden ja muodostaa lasille kaaren muotoisen häntäpään. Neuvotaan vielä, että jos sivelystä tulee liian pitkä tai paksu, voi ongelma olla liian suuressa veripisarassa tai vetolasin liian jyrkässä kulmassa. Jos taas sively jää liian lyhyeksi ja ohueksi voi veripisaraa suurentaa seuraavaan vetoon ja tarkistaa, ettei vetolasin kulma ole liian loiva. Nämä havainnollistetaan vielä grafiikan avulla. Seuraavaksi esitellään hyvää sivelyvalmistetta epäonnistuneiden vetojen (liian lyhyt/pitkä/paksu) rinnalla.

Vedoista valitaan kaksi parasta ja henkilötiedot ja päivämäärä kirjataan lasille liiyykynälä. Lopussa näytetään värjättylasi ja siitä otettuja mikrosskooppikuvia. Kuvien ja grafiikan avulla havainnollistetaan, että oikeintehdystä ja riittävän ohuesta sivelyvalmisteesta voidaan tunnistaa verisolujen muodon ja määrän mukaan erilaisia anemioita ja veri-tauteja.

Selostusteksti opetusvideoon

Tämän videon tarkoitus on opastaa laadukkaan veren sivelyvalmisteen tekovaiheet. Veren sivelyvalmistesta voidaan tutkia veren solujen kokonaismääriä ja määrasuhteita sekä yksittäisten solujen morfologiaa. Sivelyvalmiste tulee tehdä mahdollisimman pian näytteenoton jälkeen.

Tartuntavaaran takia on tärkeää huomioida hyvä käsihygienia ja käyttää suojakäsineitä. Veren sivelyvalmisteen tekemiseen tarvitset: kapillaarin, puhtaita vetolaseja, puhtaita ja pölyttömiä objektilaseja, kuljetuskotelon sekä EDTA-putkeen otetun laskimoverinäytteen ja lyijykynän. Myös kapilaarinäyte soveltuu sivelyvalmisteen tekoon.

Tässä videossa esitellään ensiksi sivelyvalmisteen teko kokonaisuudessaan ja lopuksi käydään läpi vaiheet osissa korostaen tärkeimpiä kohtia.

Sivelyvalmisteen teko vaatii harjoittelua ja useita toistoja. Joskus näyte saattaa olla lipeeminen, jolloin sivelyvalmistesta tulee reikäinen tai esimerkiksi näytteen matala tai korkea hemoglobiinipitoisuus saattavat hankaloittaa valmisteen tekoa.

Jos sivelystä tulee liian pitkä tai paksu, voi ongelma olla liian suuressa veripisarassa tai vetolasin liian jyrkässä tai loivassa kulmassa.

Näytettä voi sekoittaa ja kapillaarin vaihtaa yritysten välissä.

Varaa tavarat lähettyville. Objektilasien tulee olla tasaisella alustalla suorituksen aikana. Näytettä tulee sekoittaa huolellisesti 8-10 kertaa.

Avaa näyteputki ja ota näytettä kapillaariin kallistamalla putkea.

Siirrä kapillaarilla objektilasille mattapään lähelle pisara verta. Pisanan kokoa muuttamalla vedosta saa pidemmän tai lyhyemmän.

Aseta vetolasi objektilasille pisanan taakse noin 45° asteen kulmaan.

Vedä vetolasia taaksepäin pisaraan ja odota, että pisara leviää tasaisesti vetolasin reunan alle ja pieni pisara jää jäljelle.

Työnnä vetolasi objektilasin loppuun. Älä paina lasia tarpeettomasti äläkä nosta kesken vedon, jotta solut eivät hajoa tai jää liian kasaan.

Kuivaa sivelyvalmiste välittömästi ilmassa heiluttelemalla. Hidas kuivaus saattaa aiheuttaa solujen kutistumista lasilla.

Merkitse sivelyvalmisteen tunnistetiedot: potilaan etu- ja sukunimi sekä henkilötunnus ja, päivämäärä lyijykynällä objektilasin mattapäähän.

Valitse vähintään kaksi parasta valmistetta lähetettäväksi. Laadukas sivelyvalmiste ohenee tasaisesti ja on riittävän pitkä noin 2-3 senttimetriä, alussa paksumpi pää ohenee

loppua kohden ja muodostaa lasille kaaren muotoisen häntäpäätä. Valmistuksessa ei tulisi olla reikiä eikä aaltoja, koska tällöin etenkin valkosolut voivat jakautua epätasaisesti.

Laita valmisteet kuljetuskoteloon.

Tässä on esimerkkejä huonoista valmisteista. valmisteet ovat liian epätasaisia, paksuja tai kapeita.

Nämä puolestaan ovat laadukkaita valmisteita, joissa on riittävästi sopivan ohutta aluetta analysoitavaksi.

Liian paksut valmisteet värjäytyvät analyysikelvottomiksi, jolloin mikroskoopissa ei pysty erittelemään soluja.

Hyvästä valmisteista solumorfologia on hyvin erotettavissa mikroskooppitarkastelussa.

Alla mikroskooppinäkymä huonoista ja hyvästä valmisteista.

Hyvä sivelyvalmiste näyttää värjättynä tältä